

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

HOMMAGE A M. PASTEUR

~~~~~

L'Institut Pasteur, en deuil, tient à apporter ici un dernier témoignage de respect et de reconnaissance au maître qu'elle a perdu. Le nom de M. Pasteur est un des plus grands de la science. Les travaux qui le rendront immortel lui avaient donné de son vivant la gloire et la popularité. Mais il était quelque chose de plus pour ceux qui avaient le bonheur de l'approcher et de vivre dans son rayonnement. Il était, de très haut il est vrai, le conseiller et l'ami, le guide et le soutien; sévère pour les idées, il restait toujours bienveillant pour les personnes, et savait montrer, dans le commerce de tous les jours, qu'un homme grand peut aussi être un homme bon. Enfin, c'était le chef, blessé dans la bataille, et nous éprouvons tous en ce moment un peu de la stupeur indignée de soldats qui voient tomber leur général.

La France par son gouvernement, et Paris par sa population, ont fait au savant de magnifiques funérailles dans lesquelles tout a été harmonieux. L'ampleur du cortège, la foule respectueuse et recueillie sur tous les points du parcours; le service imposant dans l'église métropolitaine; puis, à la sortie, en présence du catafalque dressé au milieu du parvis, le beau discours de M. le ministre de l'Instruction publique, le défilé des troupes devant celui qui fut à la fois un savant et un patriote; enfin ce spectacle imprévu des malades de l'Hôtel-Dieu, se pressant aux fenêtres ou empilés sur les toits, et représentant en quelque sorte l'hommage de l'humanité souffrante envers celui qui avait appris à soulager tant de souffrances, tout cela, sous la lumière discrète d'un ciel légèrement voilé, a constitué un ensemble inoubliable.

Le maître, après cette apothéose, reviendra habiter la maison qu'il a fondée, et qui sera fière de garder sa dépouille. Elle s'efforcera aussi de garder son esprit et de rester fidèle à sa méthode. Les disciples de Pasteur sont légion; il y en a sur tous les points du globe, mais l'École Pastorienne a eu un foyer que nous nous efforcerons de ne pas laisser éteindre, et toute notre ambition est de n'être jamais jugés indignes de cette garde permanente autour d'un grand mort.



# DISCOURS

du Ministre de l'Instruction publique  
aux funérailles de M. Pasteur.

---

« Messieurs,

« Il y a trois ans à peine, dans le grand amphithéâtre de la Sorbonne, était célébrée cette inoubliable fête qu'on appela le *Jubilé de Pasteur*. Une foule innombrable, composée de savants, de professeurs, d'étudiants, d'admirateurs, était accourue de tous les coins du monde pour assister à cette solennité et pour honorer l'illustre Français qui venait d'atteindre sa soixante-dixième année et qui, dans un corps à demi foudroyé par le mal, gardait la raison la plus vigoureuse, le cœur le plus chaud, le génie le plus vaillant.

« Le gouvernement, les Académies, la science étrangère, le Conseil municipal de Paris, une longue suite de délégations enthousiastes apportaient à Pasteur l'éloquente expression de la reconnaissance universelle.

« En remettant au maître la médaille commémorative de ce grand jour, le président de l'Académie des sciences lui disait :  
« On est bien embarrassé pour donner à l'éloge une forme nouvelle; tous les mots ont été employés dans toutes les langues et tout le monde s'en souvient. »

« Aujourd'hui que la mort a brisé cette généreuse existence et que nous portons le deuil de celui que nous acclamions naguère, aujourd'hui que nous éprouvons, si récente et si douloureuse, la sensation du vide immense que laisse derrière elle cette vie prodigieuse, il semble moins que jamais possible d'élever l'éloge à la hauteur de la réalité.

« Si ceux que Pasteur a aimés, si cette noble veuve, si cette famille qu'entoure aujourd'hui la sympathie de tout le monde civilisé, n'avaient émis le vœu que le représentant du gouver-

nement prit seul ici la parole, il ne se serait pas trouvé un corps savant qui ne tint à honneur de donner à ce grand homme un suprême témoignage de gratitude. Et si le ministre qui est chargé d'adresser, au nom de tant d'admiration silencieuses, un dernier adieu à Louis Pasteur, voulait tenter de rendre à sa mémoire un hommage digne d'elle, il faudrait, hélas, qu'il essayât de mettre dans la forme imparfaite des mots, non seulement de ces choses que seule la science saurait exprimer, mais de ces choses, plus intimes et plus inexprimables encore, qui restent cachées et muettes dans l'âme populaire.

« Les phrases les plus émues ne sont qu'un éloge bien médiocre devant la pieuse douleur que cette perte irréparable a provoquée dans la France entière et qui a rassemblé aujourd'hui, sur le passage de ce funèbre cortège, vieillesse et enfance, richesse et pauvreté, bonheur et infortune, toute une humanité respectueuse, unie dans l'égalité du regret.

« La science ne se lassera point, messieurs, d'admirer dans le génie de Pasteur la force combinée d'une imagination créatrice et de la plus rigoureuse méthode expérimentale.

« Il a des inspirations subites qui le portent vers des découvertes inattendues ; il a des instincts divinatoires qui le poussent dans des routes inexplorées ; il a de ces fougues de pensée qui devancent la constatation des vérités, la préparent, la font plus rapide et plus sûre. Mais, lorsque s'est posé devant lui, dans une de ces illuminations géniales, un problème scientifique, il ne le tient pour résolu qu'après avoir questionné la nature, après avoir groupé ou éliminé les faits, après les avoir définitivement condamnés à répondre.

« Il se garde de faire peser sur la sincérité de ses observations le poids d'aucun préjugé philosophique. « La méthode expérimentale, proclamait-il dans son discours de réception à l'Académie, doit être dégagée de toute spéculation métaphysique », et, après avoir revendiqué pour sa conscience le droit d'affirmer hautement ses convictions spiritualistes et religieuses, il réclamait, non moins énergiquement, pour la science toutes les prérogatives de la liberté.

« Et c'est effectivement la libre curiosité de son esprit chercheur, aiguillonnée par cette puissance inventrice et secondée par cette scrupuleuse recherche des réalités objectives, qui l'a



guidé dans la longue et brillante évolution de ses travaux scientifiques.

« Dans une affirmation du minéralogiste allemand Mitscherlich, il pressent une erreur probable; sa raison brusquement éclairée refuse d'admettre qu'à des formes cristallines identiques puissent correspondre des actions optiques dissemblables; il interroge les groupements atomiques; il entame ses études sur la dissymétrie moléculaire; et voilà, dès maintenant, accomplis, au seuil même de cette vie de labeur, des découvertes qui auraient, à elles seules, largement suffi à la gloire d'un homme.

« Il entrevoit, dans le champ sans cesse accru de sa vision interne, l'influence vraisemblable de la dissymétrie sur des faits d'ordre physiologique; l'inconnu de vastes problèmes se déroule aussitôt devant lui; et, soutenu par un pouvoir supérieur, son génie s'attaque résolument à ce grand phénomène de la fermentation, qui restitue à l'air, au sol, à l'eau les substances momentanément empruntées par les êtres organisés, qui rend à la vie ce qui vient de la vie, qui entraîne éternellement la matière dans une sorte de mouvement circulaire et de tourbillon fécondant, et qui fait de la mort elle-même, dans le mystère de l'infini, une réserve de force et d'espérance.

« A peine a-t-il pénétré dans l'obscurité de ces questions nouvelles, qu'il y projette un jour éclatant. Les théories de Liebig et de Berzélius s'effondrent; le caractère vital de la fermentation si longtemps contesté est démontré jusqu'à l'évidence; le monde des infiniment petits apparaît dans l'implacable lumière de la vérité scientifique; la fermentation se révèle comme l'œuvre diverse de ces êtres microscopiques, vibrions, bactéries, microbes, qui assistent aux mutations essentielles de la matière organique et sont comme les ouvriers secrets et les témoins invisibles des phénomènes les plus profonds de la nature.

« Pasteur est désormais le maître de ces ferments jusqu'alors mal connus; il va les cultiver, les modifier à son gré, plier ceux du vin, de la bière, du vinaigre aux ordres de la science, aux besoins de l'industrie, aux exigences de la santé publique.

« Mais ce n'est pas tout de les avoir étudiés et asservis. L'intelligence humaine demeure inquiète et troublée devant le « comment » de leur apparition; elle se demande s'ils sont le

produit d'une génération spontanée ou s'ils proviennent d'autres germes créateurs. C'est à la première explication que s'arrêtent les savants les plus illustres; c'est elle que Pouchet croit avoir justifiée par des expériences décisives. Mais, cette fois encore, Pasteur éprouve au fond de lui-même une sorte de révolte instinctive contre cette doctrine téméraire; il contrôle, en les recommençant, les expériences de son contradicteur, il en découvre victorieusement le point faible, il montre la voie dissimulée par où, portés sur d'imperceptibles grains de poussière, se sont insinués les germes subtils qui ont échappé à l'observateur, et il dissipe, par la seule magie d'une méthode impeccable, une illusion que la science avait failli transformer hâtivement en une de ces hypothèses nécessaires dont elle est forcée d'éclairer par places les hésitations de sa marche progressive.

« Par un enchaînement naturel, l'étude des ferments conduit Pasteur à celle des maladies. Il va maintenant poursuivre, jusque dans le corps humain, la série logique de ses recherches triomphantes. Il va prouver que, comme les ferments, les virus sont des êtres vivants. Il va révolutionner l'hygiène et la médecine; il va donner à la chirurgie ces belles audaces et cette inaltérable sérénité qui lui ont facilité les opérations les plus merveilleuses, et qui ont indéfiniment élargi devant elle les horizons du possible. La doctrine de la spontanéité des maladies virulentes est emportée avec la doctrine de la spontanéité des générations microbiennes. Il suffira dorénavant, pour empêcher la naissance et le développement des maladies infectieuses, de préserver l'organisation humaine de l'invasion des germes morbides. Dans des cas qui étaient hier désespérés, la science est maîtresse de conjurer, par la méthode antiseptique, les plus funestes altérations et d'écarter la menace mortelle des êtres microscopiques.

« Mais il faut aller plus loin, il faut au besoin leur disputer leur proie, il faut dompter les virus comme ont été domptés les ferments. Et immédiatement, dans son génie infatigable, Pasteur détermine, isole, gouverne chacun de ces parasites.

« Il apprend non plus seulement à les éloigner, mais à les combattre. Il s'ingénie à entraver leur action destructive; et, après avoir indiqué le moyen d'éviter souvent la bataille, il



enseigne le moyen, si pourtant la bataille s'engage, de gagner encore la victoire.

« De la vaccination, qui n'était d'abord qu'un heureux empirisme, il fait une théorie raisonnée dont il multiplie les applications. Ses études successives sur le charbon, sur le choléra des poules, sur la rage — ces études que continuent avec tant d'éclat les savants disciples de Pasteur et qui ont récemment abouti à la cure de la diphtérie — marquent les sages, les prudentes, les glorieuses étapes d'une des conquêtes scientifiques les plus belles et les mieux conduites qu'il ait encore été donné à l'homme d'entreprendre et d'accomplir. L'atténuation des virulences, réalisable par des procédés artificiels, dans les manipulations du laboratoire, devient, contre les plus terribles maladies, un gage d'immunité et un instrument de guérison. Le poison modifié n'est plus seulement inoffensif : il est l'antidote des poisons plus violents. Le virus affaibli paralyse le virus plus fort ; et le mal, désarmé par la volonté de la science, est lui-même contraint à sauver le malade.

« Mais, messieurs, la science n'est pas le tout de l'homme, et la teneur ininterrompue de cette existence de savant reçoit du caractère de Pasteur, de sa charité, de sa modestie, un surcroît de noblesse et de beauté.

« Pasteur n'a jamais pensé que la science dérogeât en se mêlant à la vie et en se mariant à l'action. Il n'a pas dédaigné, comme des conséquences négligeables, les applications pratiques de ses découvertes ; il les a lui-même cherchées, déduites, améliorées en vue du bien public.

« Avec un désintéressement dont il n'admettait même pas qu'on le louât, il a, par ses études sur les ferments, sur la maladie des vers à soie sur le charbon, relevé des industries défaillantes, rassuré des milliers d'agriculteurs, semé la richesse ou arrêté la dévastation dans des provinces entières, prodigué sans compter, autour de lui, les trésors dus à son génie.

« Et lorsque le cours de ses travaux l'eut amené à se pencher sur la douleur humaine, il ne sut plus se détacher d'elle et il ne se déshabitua plus de la soulager.

« Il se livra à elle tout entier ; il lui appartenait sans réserve ; il donna à sa science apitoyée le frisson de l'amour et le charme de la bonté ; il réalisa, par une sorte de multiplication de sa puis-

sance de dévouement, la loi qu'il s'était imposée : « En fait de bien à répandre, le devoir ne cesse que là où le pouvoir manque. » Et, reculant tous les jours l'étendue de son propre pouvoir, il se découvrit tous les jours plus de devoirs et n'eut d'autre ambition et d'autre joie que de les remplir.

« Aussi, quand, pour mieux continuer ses recherches sur les maladies contagieuses, il projeta la création de cet Institut qui porte son nom et qui bientôt recevra ses cendres, n'eut-il qu'à faire appel à l'initiative de la générosité privée pour provoquer, dans le monde entier, des adhésions aussi touchantes que nombreuses et empressées. C'était la reconnaissance du peuple, des pauvres, des humbles, qui montait déjà vers Pasteur vivant, telle qu'elle s'incline aujourd'hui, émue et attendrie, devant ses dépouilles mortelles, telle qu'elle survivra, éternelle et immuable, à travers les générations futures.

« Heureux, disait Pasteur, heureux celui qui porte en lui un « idéal et qui lui obéit. » Il a obéi toute sa vie à l'idéal le plus pur, à un idéal supérieur de science, de vertu, de charité. Toutes ses pensées et toutes ses actions se sont éclairées au reflet de cette lumière intérieure : il a été grand par le sentiment comme il a été grand par l'intelligence, et l'avenir le rangera dans la radieuse lignée des apôtres du bien et de la vérité.

« Adieu, cher et illustre maître ! La science, que vous avez si grandement servie, la science immortelle et souveraine, par vous devenue plus souveraine encore, transmettra aux âges les plus lointains l'ineffaçable empreinte de votre génie.

« La France, que vous avez tant aimée, gardera fièrement comme un bien national, comme une consolation, comme une espérance, votre souvenir vénéré.

« L'humanité, que vous avez secourue, environnera votre gloire d'un culte unanime et impérissable, où elle verra se fondre les rivalités nationales et où elle conservera, vivante et forte, la foi commune dans le progrès infini. »

---



# LOUIS PASTEUR

---

Au moment où j'écris ces lignes, notre deuil est encore trop récent pour que je puisse songer à tracer de M. Pasteur un portrait digne du modèle. Il faut avoir l'esprit tout à fait libre et pouvoir surveiller de près sa plume quand on veut parler comme il convient d'un homme tel que lui. Tout ce qu'il m'est permis d'essayer, c'est de le montrer tel que je l'ai vu au cours de nos trente ans de relations de maître à élève, de maître affectueux à élève respectueux et reconnaissant.

Lorsque je suis entré dans son laboratoire en 1862, il n'était pas encore célèbre. Ses travaux de cristallographie avaient mis son nom en vedette dans le monde des savants ; ses expériences sur les générations spontanées l'avaient un peu fait connaître du grand public. Mais il y avait loin de là aux acclamations qui ont retenti depuis, à la pompe du soixante-dixième anniversaire de sa naissance, au recueillement universel qui vient de saluer son cercueil. Ce sera faire de M. Pasteur un rare éloge que de dire qu'il est toujours resté le même, et que s'il a mis un légitime orgueil à voir ainsi grandir le nom qu'il tenait de ses aïeux, il n'en a jamais montré la moindre vanité. Jusqu'au jour de sa mort, il est resté doux, simple et aimant.

C'est qu'il a toujours regardé plus loin que lui, dans ses recherches et dans ses découvertes ; c'est qu'il a été aussi impersonnel qu'on peut l'être dans des travaux auxquels on se livre tout entier. Ses parents avaient réussi à donner un idéal à sa vie. De ces parents, il a toujours parlé avec l'accent de la plus vive reconnaissance, et tout récemment encore, lors de la pose d'une pierre commémorative sur la maison de Dôle où il était né, il ne pouvait retenir ses larmes en évoquant leur souvenir :

« O mon père et ma mère, s'écriait-il, ô mes chers disparus, qui avez si modestement vécu dans cette petite maison, c'est à vous que je dois tout ! » Ce n'était pas seulement son cœur qui parlait dans ce touchant hommage, ou plutôt, sans qu'il s'en doutât peut-être lui-même, son cœur avait raison, car c'était de ses parents qu'il tenait un des côtés les plus nobles de son caractère, la subordination de la personne à l'idée, l'oubli de soi quand un intérêt supérieur commande.

Son père avait eu une carrière des plus modestes. Il avait été soldat dans les dernières années de l'Empire, et, décoré sur le champ de bataille, licencié en 1815, il était devenu tanneur, petit tanneur, peu habile aux affaires, qui ne l'intéressaient pas, mais rude travailleur dans un rude métier : c'était un opiniâtre. Ce soldat de 1815 conserva toute sa vie la foi et les ardeurs généreuses d'un volontaire de la République, avec cette différence pourtant qu'il personnifiait dans l'Empereur la gloire de la patrie, et que le retour des Bourbons lui avait paru un écroulement. Dans une si modeste situation et avec de telles idées, il ne pouvait être qu'un homme de sourde opposition. Mais l'important n'est pas ce qu'il fut, c'est la façon dont il le fut.

L'idée de la patrie vaincue et humiliée, de son relèvement nécessaire, des efforts à faire pour la remettre sur pied, du dévouement que tous étaient tenus d'apporter à cette grande tâche, voilà les premières impressions qu'ait reçues le cerveau de Pasteur enfant ; et comme le père les ramenait constamment, sous toutes les formes, avec une obstination toute pareille à celle qu'il mettait dans son labeur journalier, comme sa vie tout entière était d'accord avec sa parole, son influence a eu la puissance de pénétration d'une pluie de printemps. La vie de son fils en est restée imprégnée, et voilà pourquoi Pasteur n'a jamais vu dans ses premiers essais, dans son nom grandissant, dans sa gloire finale, autre chose qu'une satisfaction de plus en plus complète donnée à son patriotisme.

« La science n'a pas de patrie, disait-il dans un toast porté à Milan, mais les savants en ont une » ; il ne l'a jamais oublié. Il en avait fait sa souveraine, sa grande inspiratrice. C'est elle qu'il servait, sans aucune préoccupation d'intérêt personnel, dans ses recherches sur les vins, dans les fatigantes études sur la maladie des vers à soie, qui lui ont coûté sa santé. C'est pour elle qu'au



lendemain de l'année terrible il se mettait à l'œuvre pour essayer d'enlever à l'Allemagne sa supériorité dans la fabrication de la bière. « J'ai la tête pleine des plus beaux projets de travaux, m'écrivait-il d'Arbois le 29 mars 1871. La guerre a mis mon cerveau en jachère. Je suis prêt pour de nouvelles productions... Pauvre France, chère patrie, que ne puis-je contribuer à te relever de tes désastres! » On sait les satisfactions profondes que lui réservait sur ce point l'avenir. Il goûta le plaisir d'entendre dire par Huxley que ses travaux avaient plus rapporté à la France que n'avait coûté l'indemnité de guerre; il savoura le bonheur plus grand d'avoir donné à son pays ses découvertes sur les virus, les vaccins et le traitement antirabique.

\* \*

Mais le patriotisme ne suffit pas à donner du génie, ni même du talent : il les ennoblit quand il les accompagne. De quels éléments était faite, chez Pasteur, cette perspicacité géniale dont il a donné tant de preuves?

Assurément, rien n'est plus difficile que de dire en quoi consiste le génie. D'où vient l'instinct qui arrêta au niveau voulu le ciseau de Michel-Ange, qui faisait passer ici et non là le pinceau de Raphaël ou du grand Léonard? D'où part l'intuition secrète, qui, dans un laboratoire, révèle au savant l'affleurement d'un filon généreux, et l'empêche d'user sans profit ses outils sur la roche? Il n'y a évidemment pas de formule unique pour des actes si divers; et lorsque Victor Hugo répondait à Pasteur, qui lui faisait une visite de candidat : « Que feriez-vous si je me présentais à l'Académie des sciences? » il donnait une forme palpable et pressante à cette notion de pure arithmétique, que toutes les *grandeurs* ne sont pas comparables. J'ai peine à croire, du reste, que le poète ait jamais bien compris le savant, car dans les sciences, le génie, lorsqu'il apparaît, me semble résulter bien plus d'une pondération entre les facultés de l'esprit que du développement surabondant de l'une d'elles.

Encore le mot de pondération n'est-il pas le mot juste, parce que l'idée d'équilibre implique d'ordinaire l'idée de repos. Il faut chercher une image plus précise. Deux pierres qui tombent en même temps dans une nappe d'eau tranquille

déterminent à la surface deux systèmes d'ondes circulaires qui se rejoignent bientôt et agissent les unes sur les autres là où elles se rencontrent. Sur les points où passent simultanément les dos de deux de ces petites vagues, l'eau se relève beaucoup plus qu'elle ne le ferait pour chacune d'elles; elle se creuse beaucoup plus là où les creux de deux de ces vagues viennent coïncider. Par contre, elle reste en parfait repos là où passent à la fois le creux d'une onde et le dos d'une autre onde pareille. C'est ce que les physiciens appellent une interférence. De même il me paraît que dans le cerveau du savant, il y a deux forces principales, toujours en action, qui doivent tantôt s'exalter mutuellement et tantôt se réduire à l'impuissance. Il faut que le savant ait de l'imagination et soit poète à de certaines heures. Il faut qu'à de certaines autres il descende des hauteurs, qu'il prenne humblement la livrée de l'expérience et dise à son tour.

Je m'appelle Ruÿ Blas, et ne suis qu'un valet.

Dans les sciences expérimentales, l'imagination, qui s'applique à l'étude de faits concrets, débute par un acte de foi, ou de défiance, ce qui est au fond la même chose. Brusquement parfois, sans aucun travail apparent de critique, tout un coin de la science semble se plonger dans l'ombre, ou, au contraire, se baigner d'une lumière imprévue. Certaines vérités acceptées semblent tout à coup contestables; d'autres, méconnues, protestent confusément. L'imagination se met en branle. En remplaçant par des éléments qu'elle accepte comme vrais ceux dont elle suppose l'inexactitude, elle se fait une nouvelle représentation des choses, en général plus simple que l'ancienne, et avec laquelle elle satisfait momentanément ce désir de clarté qui est au fond de l'âme humaine.

Une fois qu'elle a créé cette vision intérieure, son rôle est terminé. Il faut qu'elle disparaisse tout de suite de la scène, qu'elle remplirait de trompeuses lueurs. Le rôle du laboratoire commence. Il faut que le savant soumette à l'expérience cette idée lumineuse qui lui a traversé l'esprit, et qui parfois l'a ébloui, comme si elle lui venait de quelqu'un en qui il n'aurait aucune confiance. Il faut qu'il la traite en ennemie. Je ne saurais cacher que le pas est difficile. Beaucoup ne le franchissent pas



et restent du côté du mirage, soit que leur imagination soit trop puissante, soit que leur éducation expérimentale soit sans vertu. Un des systèmes d'ondes de leur cerveau l'emporte, et rien ne peut en éteindre la vibration.

Je n'ai aucun mérite à esquisser ainsi cette analyse de l'esprit d'invention, car je ne fais que résumer et synthétiser l'histoire de Pasteur dans la plupart de ses découvertes. Chez lui, l'imagination figuratrice était puissante, et toujours en éveil. Il semble avoir tenu cette faculté de sa mère, que je n'ai pas connue, mais qui, autant que j'ai pu le voir par les souvenirs qu'elle a laissés autour d'elle et chez les siens, était prompte à l'enthousiasme. Elle représentait un peu le rêve dans une famille où le père représentait la conviction solidement assise et la ténacité. Père et mère sont représentés dans l'œuvre du fils : il suffit pour s'en convaincre de deux ou trois exemples.

\*  
\*  
\*

Prenons pour cela le premier travail de M. Pasteur, celui qui a porté sur les formes cristallines des tartrates. Il y a sur ces beaux sels, à côté des larges faces brillantes qui attirent l'attention, de petites facettes, parfois presque invisibles. M. de la Provostaye, qui avait étudié ces cristaux avant M. Pasteur et qui était un observateur soigneux, les avait certainement vues, notées, mais sans y attacher aucune importance, si bien qu'il ne leur avait fait aucune place dans la géométrie du cristal. Pasteur, au contraire, dès qu'il les a eu rencontrées à son tour, n'a plus vu qu'elles. Pourquoi? quel instinct secret l'avertissait qu'elles cachaient un mystère? C'est ici que se place l'acte de foi. Il avait eu à l'École normale un maître, M. Delafosse, dont les brillantes idées sur la structure intérieure des cristaux s'étaient emparées de son imagination. Une fois mise en mouvement, cette imagination avait persuadé au jeune maître que ces facettes mystérieuses étaient un témoin extérieur de l'arrangement intérieur des molécules, et qu'il devait par conséquent y avoir une relation entre la place qu'elles occupaient sur le cristal et sa structure intime, traduite par la façon dont la lumière le traversait. En termes techniques, Pasteur avait pressenti une relation entre la forme

cristalline et le pouvoir rotatoire. Restons fidèles à notre image en disant que son imagination avait créé un pont entre deux provinces de la science, déjà fertiles toutes deux, mais encore presque sans communications entre elles.

Puis, une fois cette vision conquise, c'était l'observateur défiant de tout, et surtout de lui-même, qui avait reparu chez Pasteur. De l'acte de foi réfléchi qu'il venait d'accomplir, il n'avait gardé que quelques conséquences directes, vérifiables par une expérience dont il avait tenu à préparer lui-même tous les éléments. C'est lui qui avait trié avec un soin méticuleux les cristaux suivant la position de leurs facettes, et dosé d'une façon irréprochable les deux solutions dont l'examen comparatif devait lui dire si son idée était juste ou fausse. Mais aussi, lorsque, l'examen terminé, il sortait ivre de joie de son laboratoire et disait à un camarade, rencontré dans la rue d'Ulm : « Je viens de faire une grande découverte », il pouvait être sûr qu'il n'y avait ni auto-suggestion ni erreur d'expérience dans son fait. L'homme de laboratoire valait en lui l'homme d'imagination, et c'était des deux qu'était fait le savant.

Dans l'exemple qui précède, le rôle de l'expérience était court et facile. C'était la représentation, la création intellectuelle du début qui était tout. En voici un autre, tout différent, dans lequel l'idée mère était relativement simple, n'avait en outre rien d'original, mais où la vérification expérimentale a amené la découverte. C'est l'histoire des recherches sur la maladie des vers à soie.

Elle semble d'abord bien touffue, mais on peut la simplifier beaucoup en la réduisant à ses éléments essentiels. Dans les vers malades, dans les chrysalides, les papillons et les œufs de l'insecte, on avait observé au microscope de petits corpuscules brillants. Comme pour les facettes des tartrates, on les avait vus, étudiés, sans en comprendre l'importance. M. de Quatrefages ne leur avait accordé que quelques lignes dans un gros ouvrage consacré à l'étude de la maladie, et pourtant, dès qu'ils lui furent révélés par la lecture de ces quelques lignes, et dès qu'il put les observer lui-même au microscope, Pasteur ne vit plus qu'eux. C'est que, différent en cela de ses prédécesseurs, il entraînait dans la question, non plus avec des hypothèses vagues ou des vues obscures, mais avec une foi



précise dont les éléments étaient puisés dans ses études antérieures. Pour lui, après ses recherches sur les ferments, sur les maladies des vins, la pénétration et le développement d'un être microscopique chez un animal vivant devait se traduire par des changements visibles, qui ne pouvaient être que des désordres et devaient constituer une maladie. Pour éprouver la justesse de cette idée, de cette interprétation inductive des phénomènes, il y avait une chose à faire, en apparence bien facile : se procurer des graines saines, les préserver de la contagion pendant l'éducation, et voir si, oui ou non, elles succombaient à la maladie régnante.

L'idée était tellement simple qu'à ce moment déjà elle n'était plus neuve. L'expérience projetée avait été faite et n'avait pas réussi. Elle aurait dû pourtant réussir, et a réussi depuis des milliers de fois. Comment expliquer ce premier échec ? C'est ici que nous allons retrouver, même dans l'exécution de l'expérience, et à côté de l'habileté pratique, l'influence de la foi première, de l'idée directrice. Jusqu'à Pasteur, l'expérience topique, qui consiste à élever à l'abri de la contagion des œufs de papillons non corpusculeux, avait été faite distraitemment, presque à l'aveuglette, parce qu'elle ne répondait qu'à une hypothèse, à un cas possible, jugé *a priori* tout aussi probable que les autres : il se pouvait que des œufs sains donnent des vers sains, mais il se pouvait aussi, tout aussi bien, que des œufs sains donnent des vers malades. Quand on prend, pour se mettre en route dans la nuit, un falot à lueurs aussi incertaines, quand en outre on connaît mal les tournants et les difficultés du chemin, on est assuré de s'égarer, et c'est ce qui était arrivé à M. Cautoni. Pasteur, au contraire, avait une lumière intérieure ; le monde des infiniment petits lui était déjà très familier, il sut échapper aux pièges de la route. et dans ce cas, presque inverse de celui des tartrates, son mérite est d'avoir su tirer d'une idée ancienne une conclusion nouvelle et féconde par le tour expérimental qu'il a su lui donner.

En résumé, imagination figuratrice, expérimentation créatrice, actives et puissantes toutes deux, mais interférant et se réduisant naturellement au repos sur leurs limites communes, de façon à ce que leurs domaines restent séparés, voilà ce qu'on trouverait dans tous les travaux de Pasteur. Mais, si j'ai introduit dans cet exposé les études du maître sur la maladie des vers à soie, ce n'est pas seulement pour ajouter un second exemple à celui des tartrates ; c'est aussi parce qu'elles me permettent d'aborder une question nouvelle, la part du hasard dans une découverte scientifique.

M. Pasteur a lancé la médecine et la chirurgie dans des voies nouvelles, sans savoir ce que c'est qu'un malade et sans avoir jamais donné seulement un coup de bistouri ; il a donné de nouveaux horizons à l'agriculture sans avoir jamais bien distingué un champ de colza d'un champ de navets. D'où lui vient cette bonne fortune d'avoir été un novateur partout où il a touché, et d'être devenu, sans le vouloir pour ainsi dire, et parfois sans le savoir autrement que par le fait accompli, un des plus grands hommes que la terre ait portés ! Il y a là des causes dont les unes viennent de l'homme, et que nous retrouverons tout à l'heure. Il y en a d'autres qui viennent de la rigueur avec laquelle il maniait cette puissante méthode scientifique à laquelle il a su rester toujours fidèle. C'est ce dernier point que montrent bien ses recherches sur la maladie du ver à soie.

Nous avons vu comment il avait résolu la question théorique : la maladie des corpuscules n'est jamais spontanée. Quand elle apparaît chez un ver ou chez un papillon, c'est qu'il y a eu pénétration d'un germe. Ce germe peut être emprunté, par l'intermédiaire de l'œuf, aux parents de l'insecte, et la maladie est alors héréditaire : il peut provenir d'un voisin contagionné, et la maladie est alors contagieuse. Mais, si tout cela était bon et même, comme nous allons le voir, nécessaire à connaître, ce n'était pas la solution du problème que M. Pasteur s'était laissé poser au début de ses études : guérir la maladie. Il importait peu d'avoir démontré que des vers, nés sains du fait de leurs ascendants, devaient rester sains de ce chef et donner une bonne récolte de cocons, si, durant leur vie, ils devaient rester exposés



à la contagion ambiante et périr par des corpuscules puisés à cette source, qu'il était impossible d'aveugler.

C'est ici que s'est, en apparence, présentée la chance. Elle a voulu, et elle aurait pu vouloir autrement, que la durée de la vie de la larve fût de quelques jours inférieure au temps nécessaire au corpuscule pour envahir le ver à un degré suffisant pour l'empêcher de faire son cocon. Peu importait donc que le ver, né de parents sains, se contagionnât, même dès les premiers jours de sa naissance, au contact de ses voisins malades. Il arrivait toujours à faire son cocon, c'est-à-dire à être utilisable industriellement. En revanche, il n'était pas capable de donner de la bonne graine, puisqu'il était infecté. Mais on n'avait qu'à s'adresser, pour avoir des œufs sains, à des éducations de vers sains héréditairement, et préservés de la contagion depuis leur naissance.

Le problème était donc résolu ; il ne l'eût plus été, du moins de cette façon, si la durée de l'évolution de la maladie eût été plus courte chez l'animal contagionné, et là-dessus, on peut être tenté de dire : Voyez le bonheur, voyez la chance ! Mais il n'y a qu'un mot à répondre : cette chance ne visite que ceux qui la méritent. A quoi eût servi à Pasteur la connaissance du fait qu'il a utilisé, s'il n'avait pas solidement établi, à l'avance, que la maladie n'était pas spontanée, et qu'elle était vraiment due, quelle que fût son origine, hérédité ou contagion, au seul corpuscule ? C'est grâce à cette notion qu'il a pu utiliser cet autre fait, découvert aussi par lui, de la différence de durée entre la vie du ver et l'évolution de la maladie. Si cette différence avait été de sens inverse, il eût cherché ailleurs, trouvé autre chose, et peut-être utilisé quelque autre loi tout aussi fortuite que celle à laquelle il s'est arrêté. Tout est hasard dans une recherche, ce qui veut dire qu'on se heurte constamment à des lois sur lesquelles on ne sait rien à l'avance. Elles ne sont ni favorables ni défavorables. Elles sont inexorables ; l'habileté consiste à les découvrir et à les mettre en état de fonctionner. Il n'y pas de bonheur ni de chance dans la découverte de M. Pasteur, il n'y a que de la ténacité et de la dextérité.

\*

\* \*

Nous venons de voir combien il importe pour le succès d'avoir une bonne méthode d'exploration qui ne laisse rien échapper, et maçonne sa fouille à mesure qu'elle avance. Mais beaucoup de savants ont cette méthode et ne laissent pourtant dans la science qu'une trace modeste. Celle de M. Pasteur est éclatante et le met hors de pair. C'est bien cette traînée lumineuse dont le félicitait Renan. D'où vient qu'il a été grand parmi les grands?

C'est que le tempérament scientifique de ce maître avait une troisième face que nous n'avons pas encore mise en évidence. Nous venons de le voir donnant d'abord carrière à son imagination, puis la bridant pour explorer prudemment et patiemment le terrain nouveau sur lequel elle l'avait entraîné. Cette besogne bien faite, et l'expérience terminée, il semble qu'il n'y eût plus qu'à dresser procès-verbal de constat, à faire un état des lieux; avec Pasteur, c'était autre chose. Cet homme d'imagination était un audacieux; cet expérimentateur était un timoré. Je m'explique.

La région dans laquelle son imagination l'avait emporté s'étendait bien au delà du point sur lequel il s'était posé et avait fait ses premières investigations. Mais ce point n'était pas choisi au hasard. Par une intuition merveilleuse qui a peut-être été sa faculté maîtresse, il choisissait une question topique, un haut sommet d'où on dominait le pays environnant. Dès lors, l'ascension faite, il pouvait jeter un regard autour de lui et y voir des choses qui, pour d'autres que lui, même pour les préparateurs qu'il avait mêlés à ses travaux, restaient noyées dans l'ombre. De là l'éclat inusité, le caractère magistral de ses communications, en particulier de celles qu'il faisait à l'Académie des sciences ou à l'Académie de médecine. Sûr de ses résultats, fort de la vision intérieure qui les rattachait logiquement à des notions déjà acquises ou à des notions nouvelles dont il pressentait la vérité, raffermi par le sentiment plus ou moins net de la continuité et de la solidité de l'ensemble, M. Pasteur se permettait parfois de vaticiner, de dépasser dans ses prévisions les limites de l'expérience.

Je ne donne pas l'exemple comme bon à suivre par tout le



monde. Les forts seuls peuvent avoir de pareilles audaces. M. Pasteur, qui se les permettait rarement, s'est quelquefois trompé. Mais en revanche que d'idées instructives il a émises, que de prévisions qui sont devenues des réalités ! Pour citer un fait précis, n'était-ce pas une héroïque imprudence que cette expérience de Pouilly-le-Fort, dans laquelle M. Pasteur avait en quelque sorte pris l'engagement, sur un lot de cinquante moutons dont vingt-cinq seulement avaient subi un traitement préalable, de laisser vivants et bien portants ces moutons traités, et de tuer les vingt-cinq autres, en leur inoculant à tous la même dose du même virus ! Promettre cela d'avance, lorsqu'on sait que tous les moutons d'un même lot ne se ressemblent pas, et que, quelque soin qu'on prenne, les virus ne sont et ne restent pas toujours identiques à eux-mêmes ! Il aurait fallu répéter plusieurs fois l'expérience à l'avance pour être assuré de son succès, et ce succès était nécessaire, en présence d'un public défiant, sinon hostile, et qui se serait frotté les mains en présence d'un échec ! Ce n'est un secret pour personne que pendant la durée de l'expérience, et à mesure surtout qu'elle approchait de sa fin, M. Pasteur avait été terriblement inquiet. Mais il avait repris toute sa sérénité en arrivant au dernier moment sur le théâtre de l'épreuve. « Je fus frappé, disait tout récemment un rédacteur du *Times* dans l'article nécrologique qu'il lui a consacré, de sa contenance sans ostentation et de sa possession de lui-même. Il semblait confus et quasi honteux des honneurs dont on l'entourait. » C'est que, dans sa modestie et sa simplicité, c'était à la méthode expérimentale qu'il rapportait ce nouveau triomphe, et, au lieu de se glorifier, il demandait peut-être intérieurement pardon à cette maîtresse impérieuse et jalouse d'avoir pris la parole pour elle et d'avoir devancé ses arrêts.

En revanche, et quelque sûr qu'il fût de ses expériences, il n'hésitait jamais à croire qu'il pouvait s'être trompé, lorsqu'il rencontrait un contradicteur digne de lui. Ce n'était pas vis-à-vis du premier venu qu'il s'arrêtait ainsi. Quand on ne lui opposait que des arguments creux, des phrases, ou des expériences mal faites, il passait, en bousculant son adversaire avec une vivacité que les spectateurs et surtout l'intéressé trouvaient parfois excessive. Il n'avait pourtant aucune rancœur contre

les hommes ; il était seulement animé, contre les idées fausses, d'une sorte de haine qui n'était que le revers de son amour profond de la vérité. Mais lorsqu'il se trouvait face à face avec un expérimentateur sérieux, comme il redevenait lui-même sérieux et attentif ! Toute la vie courante du laboratoire cessait brusquement : on arrêta, on oubliait momentanément les expériences en cours, on changeait l'outillage pour vérifier à nouveau les faits contestés, et pour examiner de près ceux qui semblaient les contredire.

En fait, ce temps d'arrêt n'a jamais été un temps perdu. De ce retour sur le passé, de cette revue plus soignée des faits contestés, M. Pasteur est toujours revenu avec une victoire nouvelle. De sa discussion avec Bastian, par exemple, il a fait sortir des notions qu'il n'avait pas auparavant, qu'il a constamment utilisées depuis jusqu'à la fin de sa carrière, et c'est ici que nous allons toucher du doigt la dernière des raisons qui ont donné une croissance si rapide et une si large frondaison à l'arbre qu'il a planté.

De la non-existence des générations spontanées, de la non-spontanéité des ferments, des virus et des maladies, aux vaccinations préventives, à la prophylaxie de la rage, quelle distance immense ! Comment comprendre que cette œuvre n'ait pas encore atteint un âge d'homme ? Il ne suffit pas de dire que M. Pasteur a dépensé sur elle quarante ans de labeurs continus. Les longs efforts n'impliquent pas nécessairement les grands résultats. Il ne suffit pas non plus d'invoquer la fécondité de ce sol, encore vierge, de la microbiologie. Le mot fécondité résume l'histoire de ces quarante ans ; il ne l'explique pas. Ce qui l'explique, dans la mesure où cela est possible, c'est cet ensemble de qualités sur lesquelles j'ai insisté, cette intuition nette du but à atteindre, ce mélange d'audace et de prudence dans la marche en avant et, par-dessus tout, cette sécurité à l'arrière, cette patience, cette persistance à revenir sur une position conquise pour bien s'y asseoir et y résister à tout assaut.

C'est pour cela que Pasteur a pu aller si loin et si vite. Il n'y a pas d'autre exemple dans la science d'un savant qui ait vu autant s'étendre et se féconder le domaine qu'il avait découvert. Peut-être Lavoisier, dont le nom vient tout naturellement à l'esprit quand on parle de Pasteur, eût-il eu la joie de



se voir aussi grand s'il avait pu arriver à la fin de sa carrière. La seule image adéquate est celle d'un Napoléon mourant triomphant au milieu d'une Europe pacifiée et définitivement conquise. Encore cette vision, si grandiose qu'elle soit, est-elle incomplète : Pasteur a conquis le monde, et sa gloire n'a pas coûté une larme.

E. DUCLAUX.

(*Revue de Paris.*)

---

# SUR LES CONDITIONS DONT DÉPEND LA PRODUCTION DU POISON

## DANS LES CULTURES DIPHTÉRIQUES

### MOYEN SIMPLE DE PRÉPARER UNE TOXINE TRÈS ACTIVE

PAR LE D<sup>r</sup> C. H. H. SPRONCK

Professeur à l'Université d'Utrecht.

---

Depuis la découverte de la sérumthérapie, la préparation des toxines microbiennes a pris un intérêt scientifique et pratique tout particulier. Il y a quelque importance à chercher les causes qui peuvent empêcher les microbes de produire leurs toxines dans les milieux de culture.

Ainsi, tous ceux qui s'occupent de la préparation de la toxine diphtérique savent combien les cultures du bacille de Löffler faites, en apparence, dans des conditions identiques sont loin d'être toujours également riches en toxine. Même en s'entourant de toutes les précautions que l'expérience a reconnues favorables à la production de la toxine, en ayant soin de veiller à ce que le bacille soit très virulent, le bouillon exactement alcalinisé, l'aération des vases suffisante, on n'arrive guère à éliminer les surprises, les déceptions, les résultats contradictoires.

Or, une série d'expériences faites dans mon laboratoire en collaboration avec M. le D<sup>r</sup> L. van Furenhout a permis de reconnaître que la condition peut-être la plus importante, c'est *que le bouillon de viande ne contienne que des traces ou point de glucose*. D'après ce que nous avons pu observer, il ne nous reste aucun doute à cet égard. Depuis plusieurs mois déjà, notre méthode a donné régulièrement des résultats tout à fait satisfaisants, et comme elle facilite à tous égards la production d'une toxine très active, je crois de quelque intérêt de donner un court aperçu de nos recherches et la description de la méthode qui en résulte.

Ces recherches furent entreprises par nécessité. Il s'agissait



de préparer la quantité de toxine diphthérique nécessaire pour immuniser quelques chevaux, et maintenir leur immunité au degré voulu. Or, par des circonstances imprévues, il n'y avait pas moyen de me procurer une chambre étuve ou une étuve de dimensions assez grande pour opérer avec une couche de bouillon de faible épaisseur, dont les avantages sont généralement reconnues. D'après une communication personnelle de MM. le Dr de Josselin de Jong, qui vient de visiter les laboratoires des fabriques de Schering, à Berlin, et de Meister, Lucius et Brüning à Höchst-sur-le-Mein, les vases à fond plat, contenant une couche de bouillon de faible épaisseur, y sont également en usage. Quant à l'aération artificielle de MM. Roux et Yersin, dont M. Roux fait usage et qui est également employée avec succès par M. Funck, à Bruxelles, elle n'est pas pratiquée en Allemagne, où elle est considérée comme superflue.

Il fallait donc bien trouver un autre moyen pour préparer la quantité de toxine nécessaire, et le succès ne s'est pas fait attendre. Depuis que nous avons éliminé la glucose, nous cultivons maintenant le bacille dans de simples bouteilles à médicaments de 500 c. c., à goulot étroit, bouchées avec un tampon d'ouate, la couche de bouillon ayant une épaisseur de 15 centimètres environ. Nous employons ces bouteilles, parce qu'elles sont beaucoup moins coûteuses que les matras et occupent moins de place à cause de leur forme cylindrique, qui permet de préparer aisément une vingtaine de litres de toxine dans une étuve de dimensions moyennes.

MM. Roux et Martin <sup>1</sup> ont fait remarquer que tous les bacilles diphthériques, même lorsqu'ils paraissent également virulents pour les cobayes, ne donnent pas les mêmes quantités de toxine dans les cultures, de sorte que l'essai de bacilles de diverses provenances est nécessaire pour reconnaître ceux qui fabriquent la toxine la plus active.

M. Funck <sup>2</sup> estime que les bacilles, tels qu'on les tire en général de la gorge des malades, n'offrent pas une virulence suffisante pour qu'on puisse en attendre une production abondante de toxine, et donne, par conséquent, le conseil d'exalter leur virulence par des passages à travers des cobayes.

1, *Ces Annales*, 1894.

2, *Manuel de sérothérapie antidiphthérique*, Bruxelles 1895.

Notons, à cette effet, que les expériences qui vont suivre ont été faites avec deux exemplaires de bacilles diphthériques de diverses provenances. Ils étaient de virulence moyenne, c'est-à-dire que la culture dans du bouillon, âgée de 24 heures, à la dose de 0,2 c.c., tuait les cobayes de 250-300 grammes dans les 24 heures après l'injection sous-cutanée.

Ensemençons un de ces bacilles dans une série de bouillons de viande de veau ou de bœuf, alcalinisés exactement avec du carbonate de soude et peptonisés à 2% (peptone Witte de Rostock), préparés d'une façon rigoureusement identique, *mais tous de viandes de diverses provenances* : servons-nous de bouteilles à médicaments cylindriques de mêmes dimensions, à goulot étroit, bouchées avec un tampon d'ouate, remplies au même niveau, la couche de bouillon ayant une épaisseur de 10 centimètres environ, et plaçons tous les bouillons au même étage de l'étuve à 36-37°.

Dans le cours du développement de ces cultures, il n'est pas rare d'observer, à la même époque, des différences notables entre elles par rapport à l'aspect, la réaction des cultures et l'activité des liquides obtenus par filtration sur porcelaine. En étudiant de plus près ces différences, on arrive facilement à distinguer trois types bien caractéristiques que nous désignons par A B et C.

*Type A.* La réaction du bouillon devient bientôt acide. A mesure que l'acidité augmente, le développement des bacilles se trouve de plus en plus entravé. Les bacilles tombent au fond, la culture s'éclaircit, et à la surface nage tout au plus un voile mince. L'acidité persiste pendant plusieurs semaines, même des mois. Tant que la réaction est acide, le liquide obtenu par filtration sur une bougie *Chamberland* n'est pour ainsi dire pas toxique pour le cobaye. L'injection de quelques centimètres cubes sous la peau détermine tout au plus un peu d'œdème, qui se dissipe bientôt. Il arrive quelquefois que dans ces cultures acides les bacilles meurent à la longue. Lorsque les bacilles sont morts, la réaction restera définitivement acide et le liquide n'acquerra jamais une activité notable.

Tant que les bacilles ont gardé leur vitalité, la réaction peut redevenir alcaline. Dans ce cas, le liquide deviendra plus ou moins toxique. Mais le bouillon type A expose singulièrement aux déceptions. D'abord il faut beaucoup de temps, et lorsqu'après



des mois, on examine le liquide de culture, celui-ci est dans la majorité des cas si peu toxique qu'on ne peut en faire usage pour la fabrication du sérum antidiphthérique.

*Type B.* Le bouillon ne s'acidifie pas du tout. On a beau examiner d'heure en heure, de jour en jour, la réaction de la culture, absolument pure, on la trouve toujours alcaline. Au même moment où la réaction acide du bouillon type *A* se prononce de plus en plus, l'on observe dans le bouillon type *B* une augmentation graduelle de l'alcalinité. En outre, la culture est très riche. Quoiqu'il se forme sur le fond de la bouteille un fort dépôt, le bouillon reste trouble et se couvre d'un voile épais, blanchâtre. Le dépôt augmente chaque jour; au moindre mouvement de la bouteille, des parcelles du voile se détachent et tombent sur le fond. Au bout de deux à trois semaines, le sédiment est très abondant et la surface est couverte d'un voile épais; le liquide intermédiaire est devenu plus clair, mais il est encore loin d'être aussi clair que celui du type *A*.

Le liquide obtenu par filtration, au bout de trois semaines, tue un cobaye de 500 grammes en 48 heures, à la dose de 1/10 de c.c.

*Type C.* Au bout de peu de jours, la réaction alcaline du bouillon devient acide. En même temps, le développement des bacilles se trouve ostensiblement entravé, la culture s'éclaircit. Puis, quelques jours après, l'acidité diminue manifestement; la culture redevient alcaline, trouble, et il se développe à sa surface un voile de plus en plus épais. Le liquide obtenu par filtration au bout de trois semaines, alors que la réaction alcaline est très prononcée, à la dose de 1/10 de c. c., donnera lieu chez le cobaye de 500 grammes à un œdème au point de l'injection, mais l'animal survit. Au bout de 1 à deux mois, le liquide tuera peut-être à la dose de 3/10 ou 2/10, mais rarement à celle de 1/10 de c.c.

Le type *C* se rencontre assez souvent, au moins dans mon laboratoire. Le type *B* est le plus rare.

L'explication des différences mentionnées est fort simple. Tantôt le boucher nous a fourni une viande (veau ou bœuf) toute fraîche et, par conséquent, riche en glucose : cette viande donne le bouillon type *A*. Tantôt il nous livre une viande qu'il a gardée depuis quelques jours, contenant, par conséquent, moins de glucose; cette viande donne le bouillon type *C*. Enfin, si le boucher nous a fourni une viande gardée trop longtemps, ayant déjà une

légère odeur et ne contenant qu'un minimum de glucose, nous obtenons le bouillon type *b*, le plus favorable pour la production d'une toxine active.

L'exactitude de cette explication semble, d'après nos observations, suffisamment établie. La même pièce de viande de veau ou de bœuf, toute fraîche, nous fournit les trois types de bouillon que nous venons de décrire. Une partie est utilisée d'emblée : elle donne le bouillon type *A*. Une seconde est gardée quelques jours : elle fournit le bouillon type *C*. Enfin, la troisième partie de la pièce est gardée si longtemps, que les premiers indices de décomposition apparaissent : elle nous procure le bouillon type *B*.

D'autre part, en ajoutant au bouillon type *B* une certaine quantité de glucose, on arrive à le transformer en un bouillon type *C* ou *A*, selon la quantité de glucose qu'on aura ajoutée. Dans une de nos expériences, nous nous sommes servis d'un bouillon de veau type *B*, alcalinisé et additionné de 2 0/0 de peptone *Witte*, que le hasard avait mis dans nos mains. Toute une série d'exemplaires de bacilles diphtériques avait été ensemencée dans ce bouillon, sans jamais produire trace d'acidité. Deux exemplaires que M. *Paltauf*, de Vienne, avait eu la bienveillance de m'envoyer se comportaient absolument comme les bacilles diphtériques de la Hollande. L'addition de 0, 15 0/0 de glucose était suffisante pour transformer ce bouillon en un bouillon type *C*; de 0, 2 0/0 pour en faire un bouillon, qui, ensemencé avec le même bacille diphtérique, était encore acide au bout de 74 jours (type *A*). Dans ce même bouillon, additionné de 1 0/00 de glucose, on obtint une culture dont, au bout de trois jours, l'alcalinité était un peu diminuée. Mais la réaction resta alcaline et vers le cinquième jour elle s'accrut de nouveau pour dépasser bientôt l'alcalinité primitive.

Il va sans dire que ces chiffres n'ont pas de valeur absolue, vu que le degré de l'alcalinité primitive du bouillon aura une grande influence sur la réaction qu'offrira la culture. Mais ils démontrent d'une façon évidente, combien il faut peu de chose pour que la culture du même bacille diphtérique produise un liquide point, peu ou très actif.

Pour obtenir des cultures riches en toxine, il faut donc éliminer en premier lieu la glucose. A cette fin, il faudra faire usage d'une viande qu'on aura laissé vieillir autant que possible,



Certes, on n'attendra pas trop longtemps. Mais même en laissant subir à la viande un commencement de décomposition, on obtiendra des résultats excellents. En outre, nous avons soin d'employer une peptone (2 0/0) qui ne contient pas de glucose, et pour toute sûreté, nous ajoutons au bouillon, après l'avoir exactement alcalinisé et additionné de 0,5 0/0 de chlorure de sodium, une petite quantité de carbonate de chaux.

En ce qui concerne l'espèce de viande, nous employons du veau ou du bœuf, mais nous donnons la préférence au dernier. Nous ne nous servons jamais de viande de cheval.

Dans une récente publication, M. Smirnow<sup>1</sup>, de Saint-Petersbourg, a fait remarquer que le bacille diphtérique cultivé dans du bouillon de viande de cheval, produit fort peu de poison. Cela s'explique d'après ce qui précède, par le fait que la viande de cheval contient beaucoup plus de glucose (Niebel<sup>2</sup>) que la viande de bœuf ou de veau.

Grâce à ces précautions fort simples, le bacille diphtérique de virulence moyenne fournit, au bout de 3 à 4 semaines, avec une régularité irréprochable, une toxine tuant à la dose de 0,2 c. c. un kilo de cobaye dans les 48 heures.

Jusqu'à présent, j'ai expérimenté avec 4 bacilles de virulence moyenne et de diverses provenances. Cultivés dans notre bouillon en utilisant, comme il a été indiqué, des bouteilles à médicaments cylindriques, la couche ayant une épaisseur de 15 centimètres environ, ces bacilles ont tous produit un liquide très actif.

Reste encore à rechercher ce que notre méthode est capable de produire, si l'on employait un bacille spontanément très virulent, ou dont la virulence est exaltée par des passages à travers l'organisme des cobayes. Voici, à ce sujet, un premier essai. Le bacille diphtérique employé était fraîchement obtenu de la gorge d'un enfant n'ayant présenté que des symptômes très légers. La culture dans du bouillon, âgée de 24 heures, à la dose de 0,2 c. c., tuait les cobayes de 250-300 grammes seulement 2 à 3 jours après l'injection. Après trois passages à travers des cobayes, la culture dans du bouillon, également âgée de 24 heures, à la dose

1. Ueber die Behandlung der Diphtherie mit künstlich dargestellten Antitoxinen. *Berliner Klin. Wochenschr.*, 1895, n° 30.

2. *Zeitschr. f. Fleisch-und Milch-Hygiene*, 1892.

de 0,1 c. c. tuait les cobayes du même poids dans les 24 heures. Or, ce bacille à virulence peu exaltée, ensemencé dans notre bouillon, a déjà produit au bout de 13 jours un liquide qui, à la dose de 1/10 de c. c. tuait le cobaye de 500 gr. dans les 48 heures après l'injection.

Il semble donc probable qu'il ne sera pas difficile de se procurer, à l'aide de notre méthode, des cultures encore beaucoup plus riches en toxine que celles dont il a été question plus haut.

Y aurait-il quelque avantage à nous servir de vases à fond plat, de façon que la couche du bouillon de vieille viande ait une faible épaisseur, ou de faire usage de l'aération artificielle de MM. Roux et Yersin? Nous ne saurions donner une réponse satisfaisante à cette question. Dans une expérience comparative, faite avec le même bacille diphthérique et le même bouillon type *B*, nous avons constaté qu'au bout de dix-sept jours le liquide obtenu par filtration de la culture non aérée artificiellement n'était pas moins toxique que celui de la culture faite dans la même étuve avec un large accès d'air. Au contraire, la culture non aérée était plus riche en toxine. Mais l'avenir devra démontrer quel procédé est le plus pratique et fournira la toxine la plus active.

Il est certain que l'air n'est pas indispensable pour le développement du bacille et la production de la toxine. MM. Roux et Yersin l'ont démontré déjà en 1889, et nous avons constaté nous-mêmes que les cultures faites à l'abri de l'air dans du bouillon type *B*, qui restent toujours alcalines, sont même assez riches en toxine. Mais la toxicité de ces cultures n'atteint pas le degré de celles faites dans ce bouillon à l'air, évidemment parce que les cultures à l'abri de l'air sont beaucoup moins riches. Si le développement du bacille était le même, la culture faite à l'abri de l'air serait peut-être plus riche en toxine que celle à l'air.

Mais l'action favorable de l'air sur la production de la toxine est due non seulement à la richesse de la culture, mais surtout à l'oxydation de la matière azotée du bouillon dans lequel prennent naissance des bases qui neutralisent les acides nuisibles. Comme ces derniers n'existent pas dans le bouillon type *B*, et que, d'autre part, l'air affaiblit la toxine, l'action défavorable de l'aération artificielle dans ce cas particulier semble explicable. L'accès de



l'air à travers le goulot étroit et le bouchon d'ouate de nos bouteilles étant suffisant pour obtenir une riche croissance du bacille dans une couche de bouillon ayant une épaisseur de 0<sup>m</sup>,15, l'accès abondant de l'air dans les vases de *Fernbach* pourrait bien affaiblir la toxine qui y a pris naissance.

Il me reste à dire quelques mots sur les bouillons d'extraits de viande. Nous avons étudié les extraits : Liebig (0,5 0/0), Kemmerich (0,5 0/0) et Cibils (2 0/0). Nos bouillons contenaient 2 0/0 de peptone Witte et furent alcalinisés avec du carbonate de soude.

Dans tous ces bouillons, le bacille diphtérique pullule plus ou moins abondamment, sans jamais produire trace d'acidité. Les bouillons d'extraits de viande se comportant à cet égard comme le bouillon de viande type *B*, on supposerait qu'ils seraient aussi également favorables à la production de la toxine. Mais l'expérience nous a appris que ces bouillons n'exposent pas moins à des déceptions que les bouillons de viande, si l'on ne tient pas compte du glucose que la viande contient.

D'après ce que nous avons pu observer, ces déceptions sont dues à ce que les dits extraits sont loin d'être toujours les mêmes. Tantôt le hasard nous fournit par exemple un flacon d'extrait Cibils, donnant un bouillon très favorable à la production de la toxine diphtérique, tantôt un autre donnant un bouillon avec lequel nous échouâmes complètement. Il paraît que c'est la quantité plus ou moins grande de sels que contiennent ces extraits qui déterminent l'irrégularité des résultats.

Utrecht, 4<sup>er</sup> sept. 1895.

---

# ESSAIS SUR LE POUVOIR RÉDUCTEUR DES LEVURES PURES

## MOYENS DE LE MESURER

PAR AL. NASTUKOFF

(Travail du laboratoire de microbiologie de l'Institut agronomique de Paris et de la R. Stazione di patologia vegetale de Romé).

On connaît depuis longtemps les phénomènes de réduction qui s'accomplissent dans un liquide en fermentation : la formation d'hydrogène sulfuré (Nessler, Sonnino et Sostegui, de Rey-Pailhade), d'aldéhyde (Durin, Roeser); d'acide sulfureux (Haas); la réduction du sulfate de cuivre (Rommier, Quantin, Chuard, Pichi), celle des nitrates (Laurent). La décomposition de l'acide malique (Chuard), la formation de l'acide succinique (Comboni), la production de mannite pouvaient être rattachés à cet ordre de phénomènes.

Beaucoup de ces recherches ont été faites à l'abri de toute intervention bactérienne, et il semble bien que le pouvoir réducteur de la levure soit, comme son pouvoir ferment, une propriété de son protoplasma.

J'ai pourtant cru utile : 1° de constater à nouveau cette action réductrice ; 2° de la mesurer ; 3° de voir si elle était la même dans les différentes races de levures et marchait de pair avec leur pouvoir comme ferment.

Les moyens que j'ai employés pour constater le pouvoir réducteur sont un peu différents de ceux qui ont été jusqu'ici mis en œuvre. Je me servais d'une solution aqueuse de saccharose à 10 0/0, additionnée de 5 à 7 grammes par litre du mélange suivant, dont la composition se rapproche de celle du mélange employé par M. Gastine.

|                                       |         |
|---------------------------------------|---------|
| Phosphate bibasique d'ammoniaque..... | 7gr,30  |
| Tartrate neutre d'ammoniaque.....     | 25gr,50 |
| Bitartrate de potasse.....            | 43gr,60 |
| Hydrate de chaux.....                 | 2gr,00  |
| Chlorure de sodium.....               | 0gr,20  |
| Acide tartrique.....                  | 18gr,50 |

Comme substance à réduire, au lieu du sulfate de chaux, je mettais du sulfate de magnésie, dont j'appréciais le degré de réduction en ajoutant directement du sous-nitrate de bismuth au liquide à fermenter.

Ce sel, proposé par MM. Gayon et Dupetit pour empêcher les fermentations secondaires, a été employé à ce titre dans la préparation de l'hydromel, et on a remarqué que le miel prend alors une couleur chocolat, à cause de la formation d'un peu de sulfure de bismuth (Gastine, *Revue suisse et Apiculteur*, 1892).

J'ai vu, avec mon liquide nutritif et des levures pures, l'une de bière de Bruxelles, l'autre d'un vin de Portugal, qu'il n'y a formation de sulfure de bismuth, si la solution saccharine ne contient pas de soufre libre, qu'autant qu'il y a fermentation, et que, dans ce cas, elle augmente avec la quantité de sous-nitrate ajouté avant l'ensemencement. On l'aperçoit déjà dans les flacons qui ne contiennent que 0<sup>gr</sup>,03 de sous-nitrate par litre. Si on le supprime, il n'y a plus aucun changement de teinte, ce qui prouve que la teinte est faite d'un composé de ce métal. Quant au sulfate de magnésie, on peut pousser la proportion à 4 0 0, sans rien changer à la réaction, mais il faut qu'il y en ait des traces, car c'est lui qui fournit le soufre.

Dans une expérience dans laquelle j'avais mis, en présence de 20 c. c. de liquide fermentescible sans bismuth, et ensemencé avec une levure pure de Portugal, 8, 20 et 100 milligrammes de sulfate de magnésie, je trouve, la fermentation à peu près terminée, et en dosant le sulfure avec une solution faible d'iode, qu'il y avait partout la même quantité de soufre oxydé, à savoir : 0<sup>mgr</sup>,16, correspondant à 0<sup>mgr</sup>,6 de sulfate de magnésie réduit, c'est-à-dire à 7,5 0/0 de la dose minimum de ce sel mise en expérience.

La coloration que prend le liquide quand on y ajoute un peu de sous-nitrate de bismuth permet de suivre de l'œil la réaction et même de faire un dosage approximatif. Dans dix matras contenant 20 c. c. de liquide fermentescible et ensemencés avec de la levure pure de champagne, mettons peu à peu, de façon à ne pas arrêter la fermentation, des quantités déterminées d'une solution stérilisée de sulfate de magnésie et de sous-nitrate de bismuth en suspension. Préparons ainsi cinq groupes de 2 matras, contenant respectivement 2, 4, 6, 8 et 10 milligrammes de sous-nitrate.



Nous verrons l'intensité du noircissement augmenter jusqu'aux matras qui contiennent 8 milligrammes et qui ne différeront pas notablement de ceux qui en contiennent 10. C'est là la limite ou de la sensibilité du réactif ou de la puissance réductrice de la levure.

Avec ces flacons on peut faire une échelle du pouvoir réducteur des levures diverses. Prenons cinq levures pures (champagne, Portugal, bière haute de Bruxelles, *Saccharomyces pastorianus* et *apiculatus*), et ensemençons avec chacune d'elles 4 matras. Ajoutons à chacun de ces matras des doses de 2 milligrammes de sulfate de magnésie et 2 milligrammes de sous-nitrate pour 20 c. c. de liquide, en ayant la précaution de ne faire ces additions que lorsque le maximum de noircissement dû aux doses déjà ajoutées est à peu près atteint. Nous verrons d'abord que les matras ensemencés avec une même race de levures se comportent à peu près de même. Nous constaterons ensuite, en comparant le degré de noircissement obtenu avec la quantité d'alcool formé ou d'acide carbonique dégagé, qu'il n'y a aucun rapport entre les deux phénomènes, et que par conséquent l'activité réductrice du protoplasme ne marche pas de pair avec son pouvoir ferment. Nous constaterons enfin que les différentes races de levures n'ont pas la même activité réductrice.

Le tableau suivant résume quelques expériences. A côté du nom de chaque race on trouvera le nombre de jours qu'a duré la fermentation, la quantité d'acide carbonique produit, et la dose de sous-nitrate qui a donné le noircissement maximum au bout de ce temps.

| Levures.                   | Durée.    | Acide carbonique. | Dose de sous-nitrate. |
|----------------------------|-----------|-------------------|-----------------------|
| Levure de Portugal.        | 14 jours. | 0,63 grammes.     | 6 milligrammes        |
| Levure de champagne.       | 41 —      | 0,84 —            | 8 —                   |
| Idem.                      | 42 —      | 0,99 —            | 8 —                   |
| Levure de Bruxelles.       | 45 —      | 0,76 —            | 2 —                   |
| Idem.                      | 45 —      | 0,64 —            | 2 —                   |
| <i>Sacch. apiculatus.</i>  | 45 —      | 0,46 —            | 2 —                   |
| <i>Sacch. pastorianus.</i> | 47 —      | 1,06 —            | 4 —                   |

En rapportant tout à la levure de champagne, qui a donné le noircissement maximum, on a donc le classement suivant, obtenu en comparant les quantités de sous-nitrate :

|                          |      |
|--------------------------|------|
| Levure de champagne..... | 1,00 |
| — de Portugal.....       | 0,75 |

|                                 |      |
|---------------------------------|------|
| <i>Sacch. pastorianus</i> ..... | 0,50 |
| <i>Sacch. apiculatus</i> .....  | 0,25 |
| Levure de Bruxelles .....       | 0,25 |

Cette méthode de comparaison est un peu pénible, et j'en ai imaginé une autre plus pratique. Dans un ballon de 500 c. c. de capacité, on introduit un tube de verre fermé à sa partie inférieure par une baudruche, et d'une capacité d'environ 150 c. c. Dans le ballon et dans le tube on verse au même niveau une solution saccharine quelconque, additionnée de 1 0/0 de sulfate de magnésie, et 0,5 0/0 du mélange salin indiqué plus haut. Puis, dans le liquide du ballon on ajoute 2 0/0 de sous-nitrate de bismuth. Enfin on ensemence avec une levure pure le liquide du tube intérieur. C'est seulement dans ce tube qu'il se produit une fermentation, et qu'on observe un dépôt de sulfure de bismuth, dû à la portion de sous-nitrate qui y a pénétré par diffusion, et qui, constamment réduite, n'est jamais en proportion suffisante pour gêner la fermentation.

Au lieu de doser ce sulfure de bismuth, on peut profiter de ce que le liquide du tube, après fermentation, filtre limpide, mais avec une couleur jaune foncé, inaltérable à l'ébullition ou sous l'action de l'iode, et devenant verte quand on chauffe le liquide avec du prussiate jaune de potasse. Cette couleur ne traverse pas la membrane: elle est évidemment due à une réaction entre le sulfure de bismuth et un nitrite de la liqueur, et augmente avec la quantité de sulfure de bismuth, de sorte que son intensité, évaluée au colorimètre Duboscq, est en rapport avec la quantité de ce sulfure, c'est-à-dire avec la force réductrice de la levure employée.

La présence de la membrane animale rend plus difficile la stérilisation des vases, mais on peut se contenter de laver tout à l'eau bouillante, puis à l'alcool. On verse ensuite les liquides stérilisés et, à la surface de celui du ballon, on verse une petite couche d'huile fine pour éviter le développement des moisissures.

Les nombres obtenus par cette méthode se rapprochent beaucoup de ceux que fournit la méthode précédente. Voici ceux que j'ai trouvés avec une solution à 10 0/0 de saccharose, après 6 jours de fermentation, la coloration avec la levure de champagne étant prise pour unité :

|                                        |      |
|----------------------------------------|------|
| Levure de champagne.....               | 1,00 |
| <i>Saccharomyces pastorianus</i> ..... | 0,83 |
| <i>Saccharomyces apiculatus</i> .....  | 0,33 |
| Levure de Bruxelles.....               | 0,24 |

Dans une autre expérience, après 15 jours de fermentation d'une solution saccharine à 15 0/0, j'ai trouvé pour la coloration et les quantités d'alcool produites les chiffres suivants :

|                                  |      |      |          |                  |
|----------------------------------|------|------|----------|------------------|
| <i>Sacchar. pastorianus</i> ...  | 0,86 | avec | 2,12 0/0 | d'alcool en vol. |
| Levure de Portugal....           | 0,65 | —    | 7,32     | —                |
| Levure de Bruxelles....          | 0,43 | —    | 3,90     | —                |
| <i>Sacch. apiculatus</i> , ..... | 0,39 | —    | 3,90     | —                |

On relève bien entre les premiers de ces nombres des différences avec ceux qui ont été donnés plus haut, mais elles ne sont pas grandes. Quant aux derniers, les conditions ne sont pas comparables, la fermentation ayant été faite avec 15 0/0 de saccharose. Ils servent surtout à mettre de nouveau en relief l'indépendance du pouvoir réducteur et du pouvoir ferment.



# STATISTIQUE

DE L'INSTITUT ANTIRABIQUE MUNICIPAL DE TURIN

PAR M. BORDONI-UFFREDUZZI

On trouvera, dans le tome V de ces Annales, la statistique des cinq premières années de fonctionnement de l'Institut antirabique de Turin, fondé en 1886. Après avoir subi les modifications rendues nécessaires par les renseignements reçus depuis, cette statistique se résume dans la première coupure du tableau suivant, où on a réparti les malades suivant les 3-catégories A, B et C, des statistiques de l'Institut Pasteur, et où on a distingué les personnes traitées suivant le siège de la morsure.

Les coupures suivantes donnent de même les statistiques des annexes 1891, 1892, 1893 et 1894 ordonnées de la même façon.

| ANNÉES    | CATÉGORIES | PERSONNES MORDUES<br>à la tête. |        | PERSONNES MORDUES<br>sur des<br>parties découvertes. |        | PERSONNES MORDUES<br>sur des<br>parties couvertes. |        | TOTAUX   |        |
|-----------|------------|---------------------------------|--------|------------------------------------------------------|--------|----------------------------------------------------|--------|----------|--------|
|           |            | traitées                        | mortes | traitées                                             | mortes | traitées                                           | mortes | traitées | mortes |
|           |            |                                 |        |                                                      |        |                                                    |        |          |        |
| 1886      | A          | 43                              | 1      | 319                                                  | 7      | 174                                                | —      | 536      | 8      |
| à         | B          | 37                              | 1      | 281                                                  | 4      | 196                                                | —      | 514      | 5      |
| 1890      | C          | 2                               | —      | 52                                                   | —      | 40                                                 | —      | 94       | —      |
| 1891      | A          | 12                              | —      | 96                                                   | —      | 61                                                 | 1      | 169      | 1      |
|           | B          | 12                              | 1      | 68                                                   | 2      | 39                                                 | —      | 119      | 3      |
|           | C          | 8                               | —      | 48                                                   | —      | 27                                                 | —      | 83       | —      |
| 1892      | A          | 6                               | 1      | 49                                                   | —      | 31                                                 | —      | 85       | 1      |
|           | B          | 4                               | —      | 50                                                   | 1      | 40                                                 | —      | 94       | 1      |
|           | C          | 5                               | —      | 19                                                   | —      | 19                                                 | —      | 44       | —      |
| 1893      | A          | 5                               | —      | 74                                                   | —      | 25                                                 | —      | 104      | —      |
|           | B          | 2                               | —      | 51                                                   | —      | 34                                                 | —      | 87       | —      |
|           | C          | 4                               | —      | 15                                                   | —      | 12                                                 | —      | 31       | —      |
| 1894      | A          | 20                              | 2      | 89                                                   | —      | 37                                                 | —      | 146      | 2      |
|           | B          | 7                               | —      | 39                                                   | —      | 26                                                 | —      | 72       | —      |
|           | C          | 2                               | —      | 10                                                   | —      | 17                                                 | —      | 29       | —      |
| TOTAUX... |            | 169                             | 6      | 1202                                                 | 14     | 778                                                | 1      | 2207     | 21     |

La mortalité moyenne, telle qu'elle ressort de ce tableau, est donc de 0,95 0, 0. En 1894, elle a été nulle : aucun de nos 222 malades traités n'a succombé.

Ce qui précède comprend la statistique de notre Institut antirabique ; voici maintenant quelques faits importants que j'ai pu observer, et qui ont leur intérêt scientifique et pratique.

#### I. — SUR LA RÉSISTANCE DU VIRUS RABIQUE A L'ACTION DE L'ALCOOL ET DE LA CONGÉLATION.

Par deux fois la moelle allongée d'un chien fut adressée au Laboratoire dans un flacon rempli d'alcool : une fois elle avait séjourné dans ce liquide pendant trois jours, et les lapins inoculés moururent avec les signes caractéristiques de la maladie après 75 jours ; dans le deuxième cas, la moelle avait séjourné dans l'alcool pendant deux jours seulement, et les lapins inoculés moururent dans l'espace de 50 jours. Evidemment l'alcool produit sur le virus rabique une atténuation progressive, mais lente : de sorte que ce liquide pourrait servir, faute de glycérine, pour la conservation de la moelle des animaux suspects lorsque l'envoi n'en est pas fait à trop grande distance.

Une autre fois il arriva qu'un chien mort, après avoir été enterré peu profondément pendant l'hiver, fut déterré et expédié au laboratoire dans un état de congélation complète. Les lapins inoculés avec l'émulsion de sa moelle allongée moururent au bout de 28 jours, c'est-à-dire avec un retard à peine sensible. La congélation ne détruit pas, mais conserve le virus rabique.

#### II. — DE LA GUÉRISON SPONTANÉE DES FORMES DE « FAUSSE RAGE » CHEZ LES PERSONNES SOUMISES AU TRAITEMENT PASTEUR.

J'ai donné autrefois<sup>1</sup> la description d'une forme morbide spéciale, qui se déclare parfois chez les personnes soumises au traitement Pasteur, et que j'ai considérée comme une forme de rage atténuée, se développant lorsque le traitement préventif n'a pu agir d'une manière complète.

C'est sur cette forme morbide que M. le professeur Murri, de Bologne<sup>2</sup>, a essayé un traitement spécial par l'injection intra-

1. *Gazzetta degli Ospitali* 1892, n° 59.

2. *Bollettino della Società med. chirurg. di Bologna*, 15 avril 1892.

veineuse du virus rabique atténué, croyant pouvoir attribuer à ces injections la guérison obtenue. Dès le premier cas publié par MM. Poppi et Novi, j'ai exprimé une opinion contraire, donnant l'exemple d'un autre cas semblable que j'avais eu l'occasion d'observer, et dans lequel la guérison avait eu lieu sans aucune intervention thérapeutique.

M. le professeur Murri<sup>1</sup> a publié depuis lors un nouveau cas tout à fait semblable aux précédents par la symptomatologie et le cours de la maladie, dans lequel il pratiqua de nouveau ses injections intra-veineuses de virus rabique légèrement atténué, en obtenant une guérison que M. Murri tend également à attribuer à l'action des injections pratiquées.

J'ai pu, dans le cours de cette année, observer un autre cas, que l'on peut appeler vraiment classique dans l'espèce, et qui a une importance exceptionnelle soit par la gravité de son cours, soit par l'issue heureuse qu'il eut aussi, sans intervention thérapeutique spéciale. Ce fait confirme encore la possibilité de la guérison spontanée de la rage chez les personnes soumises au traitement Pasteur.

E. B., âgé de 14 ans, mordu le 16 novembre 1893 à la main, par un chien dont la rage a été reconnue expérimentalement par l'inoculation d'autres animaux, fut soumis au traitement Pasteur du 24 novembre au 6 décembre, jour où le traitement fut suspendu, à cause des premières manifestations de la maladie dont je parlerai ci-après.

Je ferai observer, en attendant, que pendant tout le temps que dura le traitement, le malade reçut l'injection de la première série seulement des moelles atténuées, de celle du 14<sup>e</sup> jusqu'à celle du 3<sup>e</sup> jour, et qu'au commencement de la deuxième série, c'est-à-dire trois jours après avoir reçu l'injection de la moelle la plus virulente, le traitement fut suspendu parce que les symptômes de la maladie étaient déjà évidents.

J'insiste sur ce fait, parce qu'il me semble qu'il sert à démontrer, presque jusqu'à l'évidence, que l'on ne peut attribuer au traitement même aucune part dans l'apparition de la maladie qui eut lieu trois jours seulement après l'injection du virus moins atténué, et qui fut même précédée par une période prodromique de 2 ou 3 jours, pendant lesquels l'enfant commença à se

1. *Il Policlinico* 1894, fasc. 8.



plaindre de céphalée, de tristesse et de manque d'appétit.

Le 7 décembre, ses parents, croyant qu'il s'agissait d'un dérangement gastrique, administrèrent un purgatif dont l'effet violent fatigua beaucoup le malade. Le jour suivant il se manifesta une céphalée intense, des douleurs à la nuque et une insensibilité cutanée dans les membres inférieurs. Le médecin appelé soupçonna une méningite cérébro-spinale, quoiqu'il n'y eût pas de fièvre, qui fit défaut pendant tout le cours de la maladie. Dans la nuit du 9 au 10, des douleurs lancinantes aux jambes se manifestèrent, et le matin suivant survint une parésie nette, qui augmenta ensuite en peu de jours jusqu'à la paralysie complète. A ces symptômes s'ajoutèrent la paralysie de la vessie et du rectum, qui fut précédée par des coliques très fortes, et ensuite la paralysie des bras, précédée elle aussi par une période d'irritation sous forme de douleurs lancinantes aiguës. La sensibilité cutanée et musculaire parut diminuée, particulièrement aux membres inférieurs, mais d'une façon peu prononcée. Il y eut de la paralysie de la luette, mais pas de dysphagie. La voix était aphone, le pouls petit et très faible, la respiration normale, la céphalée intense et persistante, l'appétit très faible.

A ces phénomènes il faut ajouter celui de la sécrétion abondante d'une salive dense et filante, et des accès furieux qui, au maximum d'intensité de la maladie, se répétaient fréquemment dans la journée, presque chaque demi-heure, et pendant lesquels l'enfant se débattait, voulait se jeter hors du lit, et essayait parfois de mordre. Le stade culminant de la paralysie et de l'agitation dura 3 à 4 jours seulement. Ensuite la paralysie vésico-intestinale commença la première à disparaître; vint ensuite celle des bras, et en dernier lieu celle des membres inférieurs, aidée par l'action du massage. Peu à peu l'appétit reparut, les accès de fureur devinrent plus calmes et plus rares, et la paralysie s'améliora jusqu'à permettre à l'enfant de se tenir sur ses jambes vers la fin du mois de janvier suivant (1894). L'amélioration cependant ne fut complète qu'après quelques mois.

Ce cas est vraiment intéressant, soit parce que c'est le premier exemple bien constaté de rage non seulement paralytique, mais encore furieuse, qui arriva à la guérison, après avoir atteint un degré aussi élevé de gravité, soit encore parce que, dans celui-ci, comme dans le premier cas que j'ai décrit, la guérison

fut spontanée, le malade s'étant cette fois refusé constamment à tout genre de médication.

Je dois ajouter cependant que je n'aurais pas même su conseiller la méthode de traitement préconisée par M. le professeur Murri, parce que, en jugeant d'après ce que nous connaissons jusqu'ici de la manière dont l'immunité se produit, il n'y avait aucune raison de supposer que l'injection d'un virus atténué puisse produire l'immunité assez vite pour exercer une influence bienfaisante sur le processus morbide en cours. L'immunité, par des autres virus atténués, se manifeste au contraire avec une certaine lenteur, et non d'une manière prompte, comme on l'obtient par exemple avec le sang des animaux immunisés.

---

## ERRATA

---

Page 721; 23<sup>e</sup>, 24<sup>e</sup>, 26<sup>e</sup> lignes (tableau); *au lieu de* : 0,03, lire 0,5.

Page 724; 6<sup>e</sup>, 7<sup>e</sup> lignes (tableau); *au lieu de* : culture de contrôle en bouillon, lire culture du colibacille ayant été cultivé dans l'épanchement pleurétique et *au lieu de* : culture du colibacille ayant été cultivé dans l'épanchement pleurétique, lire culture de contrôle en bouillon.

Page 727; 8<sup>e</sup>, 9<sup>e</sup> lignes; *au lieu de* : caractéristique, lire caractéristiques.

# REVUES ET ANALYSES

---

## SUR L'ORIGINE DES LEVURES ALCOOLIQUES

PAR M. A. JÖRGENSEN

---

D'où viennent les levures qui servent depuis des siècles à la fabrication des boissons alcooliques usuelles, le vin, la bière, le cidre? Sont-elles, comme le veulent De Bary et Hansen, des espèces distinctes, se présentant toujours sous forme de cellules rondes ou ovales se reproduisant par bourgeonnement? Sont-elles au contraire, suivant l'opinion de Pasteur et de Brefeld, des formes de développement de mucédinées plus complexes, et capables, lorsqu'on les éloigne des liquides fermentescibles, de revêtir d'autres aspects qui les rendent méconnaissables? C'est là une question qui est née le jour où M. Pasteur, poussé par son idée féconde, bien que discutable, que la fermentation est la vie sans air, a vu le mycélium immergé de certains mucors se diviser en cellules rondes, ayant, à la grosseur près, des formes analogues à celles des levures, et capables de donner une fermentation alcoolique faible dans les milieux sucrés où on les ensemençait. Il y avait là, à côté de la transformation physiologique d'un article du mycélium en une cellule ferment, une transformation morphologique d'un filament en une chaîne de cellules rondes ou ovales, qui permettait de se poser, au sujet de l'origine des levures, une question restée *en l'air* jusque-là.

Ces cellules de mucors n'étaient en effet pas des levures. Elles n'en avaient pas le mode de prolifération par bourgeonnement. D'un autre côté, les études que M. Pasteur avait faites sur le vin lui avaient montré que, quelques semaines avant la maturation du raisin, on ne trouvait trace, ni sur le raisin, ni sur le bois du cep ou de la grappe, ni sur le sol de la vigne, des levures de vin qui y sont si abondantes au moment de la maturation, que le vigneron n'a presque jamais à s'occuper d'en introduire dans la vendange. D'où sont-elles venues? Quel est l'arrosier mystérieux qui saupoudre de leurs germes les pellicules du fruit, au moment où elles doivent être utiles? N'est-il pas plus naturel de penser qu'elles proviennent de ces végétaux microscopiques, qui sont



en toute saison répandus partout, et dont certaines parties, certains organes s'accommoderaient à devenir des levures en quelque sorte par une voie naturelle, et lorsque se trouveraient réalisées sur leur milieu de culture, par suite du procès de maturation, les conditions nécessaires à cette nouvelle forme de développement.

Sous la pression de cette idée, M. Pasteur avait étudié les moisissures des raisins. Il en lavait la peau avec un pinceau, étudiait au microscope les formes qui se détachaient, et les aspects qu'elles prenaient lorsqu'on les portait dans des milieux sucrés naturels ou artificiels. Il n'avait pas tardé à découvrir une forme très fréquente, déjà étudiée par de Bary sous le nom de *Dematium*, et dont les articles mycéliens, d'ordinaire plus ou moins allongés, se garnissent, au voisinage de leurs

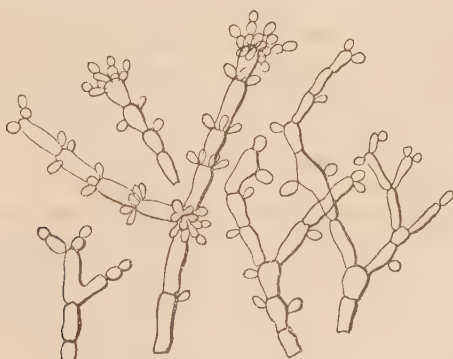


Fig. 1.

points d'attache, d'une véritable collerette (fig. 1) de petites cellules ovales, douées de la faculté de se détacher, de proliférer à leur tour. C'étaient des levures, de la levure de *Dematium*. Les filaments mycéliens allongés du végétal pouvaient être rapprochés de certaines levures allongées trouvées dans le vin, en particulier du *Saccharomyces Pastorianus*. Les cellules elliptiques de la collerette et leurs descendantes pouvaient être rapprochées des cellules de vin ordinaire. A la vérité, cette ressemblance n'impliquait pas l'identité, et lorsque plus tard, à la suite des travaux d'Engel et de Hansen, l'attention se fut portée sur les spores de la levure, il fut facile de voir que là où les levures de vin et de bière donnent facilement des spores, les levures de *Dematium* n'en donnent pas.

Dans la même voie, Brefeld avait accumulé d'autres arguments, mais sans arriver non plus à une conclusion ferme. Il avait vu des Urédinées et d'autres champignons supérieurs arriver, dans certaines conditions spéciales de culture, à fournir une suite indéfinie de généra-

tions de cellules se reproduisant exclusivement par bourgeonnement, et la variété des modes de transformation observés chez les *Nectria*, les *Dothidea*, les *Endomyces*, les *Ascoïdea*, semblait témoigner qu'on se trouvait en présence d'un fait général. Mais si Traube avait ainsi rendu probable la filiation entre les levures et certaines mucédinées, il n'avait pas démontré que ses cellules bourgeonnantes sont de vraies levures, et présentent d'abord la propriété de donner naissance à des spores endogènes, puis celle de fournir une fermentation active.

C'est l'apparition de ce double caractère dans les formes cellulaires dérivées d'un végétal supérieur qui a été l'origine des progrès qu'a

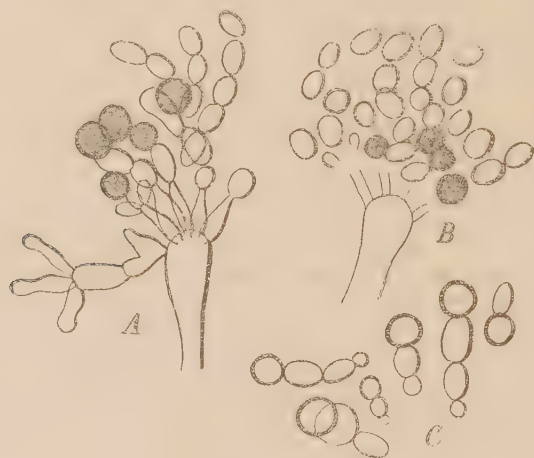


Fig. 2.

faits la question entre les mains de M. Jørgensen. Un des élèves de ce savant, M. John J. Juhler, étudiait à Copenhague le champignon bien connu, l'*Aspergillus oryzae*, qui sert de temps immémorial aux Japonais pour obtenir leur boisson fermentée de riz.

En cherchant à pousser à l'extrême le pouvoir diastasique de ce champignon, M. Juhler trouva, dans un flacon d'empois de riz saccharifié, une végétation abondante de cellules provenant du champignon, et produisant une fermentation alcoolique active. Les vérifications conduites par M. Jørgensen ont confirmé cette filiation, et montré que ce sont les conidies du champignon qui donnent des *saccharomyces* typiques. Les hyphes qui portent les chaînes de conidies (A, fig. 2) et les stérigmes renflés du végétal se dissolvent à mesure que la végétation vieillit (B), les conidies se détachent, et on les voit en C) bourgeonner à la façon des levures. En plus de la puissance comme ferment, elles ont aussi la faculté de donner des spores, et la figure 3

représente l'aspect d'une culture de levure d'*Aspergillus orizæ* conservée à l'état humide sur un bloc de plâtre. Sauf qu'il n'y a d'ordinaire que 2 spores, la ressemblance est complète avec des levures authentiques sporulées.

On avait donc sous les yeux le premier exemple formel et authentique de la transformation d'un végétal microscopique complexe en une levure véritable et industrielle. « C'est à la suite de cette observation, dit M. Jorgensen, que je fus naturellement conduit à me demander si cette propriété de l'*Aspergillus orizæ* n'était pas une propriété générale, et s'il n'était pas possible de retrouver les formes primitives des divers types de levures alcooliques dans les mucédinées vivant autour de nous. »

Cette filiation avait été, nous l'avons vu, soupçonnée par Pasteur



Fig. 11.

et Brefeld, mais ces deux savants avaient opéré tous les deux en cultivant dans des milieux artificiels les germes pris à la surface du raisin. M. Jorgensen pensa, et c'est là une idée heureuse puisqu'elle a été féconde, qu'il était préférable, pour observer au laboratoire toutes les formes qu'une mucédinée est capable de fournir dans la nature, de ne pas la séparer de son milieu naturel. En conséquence, puisqu'on voulait étudier l'origine des levures du vin, il fallait prendre des raisins avec la variété de germes qu'ils portent et, par une étude attentive, faire l'analyse de ces végétations diverses et des rapports qui peuvent exister entre elles.

Dans cette étude faite sur des raisins frais ou secs de diverses provenances, et conservés dans des cristallisoirs humides, M. Jorgensen est tombé tout naturellement sur ces formes *Dematium* si fréquentes qui avaient attiré autrefois l'attention de de Bary et de Pasteur. Une étude soignée lui a montré que, comme l'avait pensé ce dernier savant, ces *Dematium* donnent des levures vraies, mais la filiation



n'est pas celle qu'avait acceptée Pasteur : les cellules de la collerette ne sont pas des levures, elles en sont seulement des ascendants ; le procès de transformation en levure, est beaucoup plus compliqué et nous allons en décrire les divers stades.

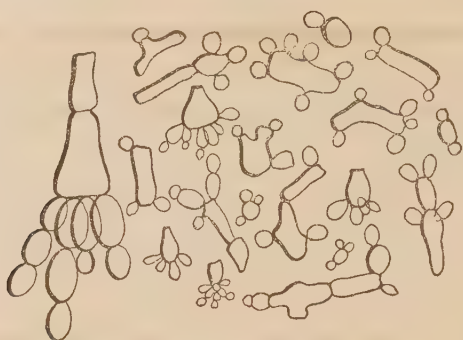


Fig. 4.

La figure 4, que nous avons vue plus haut, donne l'aspect général de la végétation jeune des formes *Dematium*, à la température ordinaire ou au voisinage de 20°, sur des raisins. Peu à peu on voit se produire dans le mycélium une tendance à se diviser en articles, qui bourgeonnent en même temps que les bourgeons de la collerette, de sorte que la végétation prend l'aspect de la figure 4, analogue à celui des *Chalara* ou des *Torula*. C'est le stade auquel s'était arrêté Pasteur. Il se produit facilement aussi en culture sur gélatine alcaline, tandis que

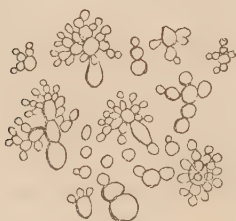


Fig. 5.



Fig. 6.

sur gélatine acide la végétation conserve plus longtemps l'aspect de la figure 4.

Soumettons maintenant une culture sur raisins à une température de 30-35° : le mycélium meurt très vite, pendant que les petites cellules de la collerette bourgeonnent avec activité, de façon à donner des paquets de 50 à 100 cellules provenant d'une même cellule mère (fig. 5). En reportant cette forme végétative sur de nouveaux raisins

à 33°, on arrive en deux ou trois cultures à faire disparaître totalement les articles mycéliens, et à donner à la plante la forme typique d'une *Torula* en germination (fig. 6).

Rapportées dans du moût à 25°, ces cellules ont des sorts divers. Les unes reviennent aux formes mycéliennes allongées; d'autres gardent leur forme *Torula*. Il se produit en même temps une faible fermentation alcoolique, mais aucune des cellules de la culture ne peut donner des spores endogènes, dans quelques conditions que ce soit. Ce ne sont donc pas encore des levures.

C'est ici que nous retrouvons l'importance de la méthode de recherches suivie par M. Jorgensen. Transportons, en effet, ces mêmes formes de *Torula*, non plus sur un moût sucré, mais sur des raisins entre 20 et 25°, et de préférence au voisinage de 20°. Pendant que les



Fig. 7.

longs fils mycéliens disparaissent, on voit beaucoup des articles libres, spécialement les articles terminaux se développer et grossir (fig. 4, à droite). Les cellules se remplissent d'un protoplasma homogène ou finement granuleux, très réfringent; de nouvelles cellules apparaissent, de préférence sur les articles terminaux, et leur ensemble donne des apparences analogues à l'appareil conidien d'un *Botrytis*. Dans les végétations plus pauvres, il se forme parfois une seule rangée de cellules dont les inférieures, les plus anciennes, sont à 4 pans et en forme d'*Oidium*, tandis que les supérieures prennent des formes ovales.

Très rarement ces cellules supérieures, en rapide développement, sont encore liées à des fils mycéliens mourants. Très exceptionnellement aussi, on voit les articles d'un filament rester réunis, et quelques-uns d'entre eux se remplir de protoplasma, tandis que les autres semblent vides et en voie de disparaître.

Beaucoup de végétations restent dans l'état que nous venons de décrire ou ne passent que lentement au stade suivant, dont on peut

déterminer à volonté l'apparition rapide en maintenant le raisin toujours un peu humide dans des cloches un peu profondes, où l'air puisse se renouveler sans entraîner une dessiccation trop rapide.

En examinant alors les plus belles de ces végétations analogues

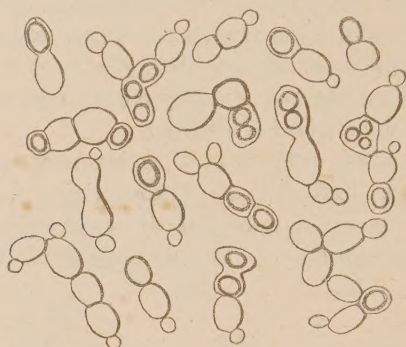


Fig. 8.

au *Botrytis*, au voisinage immédiat de la pellicule du grain, on voit apparaître, en quelques semaines, des spores endogènes sur les cellules du mycélium et sur leurs bourgeons latéraux, spécialement sur les bourgeons terminaux (fig. 7), ces cellules à spores se détachent facilement les unes des autres. Quelques-unes ont une frappante ressemblance avec les levures ellipsoïdales de vin sporulées, mais la plupart en diffèrent par leur aspect, par le nombre des spores, qui ne dépasse guère deux, et parce que ces spores sont entourées d'une membrane

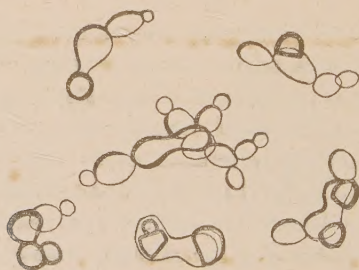


Fig. 9.

épaisse et sont fortement réfringentes. On sait que les spores de levure ont au contraire une paroi mince et un protoplasme qui ne se différencie guère de celui de la cellule de levure.

Il y a un autre moyen d'arriver à ces cellules à spores. Portons une culture à l'état de *Botrytis* dans de l'eau pure ou légèrement sucrée, on voit mourir au bout de quelque temps les fils et quelques-



uns des articles mycéliens : seules les cellules qui doivent donner des spores résistent à ce traitement. En portant alors cette végétation dans les conditions favorables signalées tout à l'heure, on voit les articles mycéliens et les bourgeons latéraux donner des spores. Les articles de l'hyphes ou de la conidie sont donc également capables de développer des spores endogènes. Il faut seulement pour cela des circonstances de végétation particulières, tandis que la forme mycélienne ou la forme de *Torula* sont indépendantes du substratum, et sont les formes ordinaires de développement du champignon.

Nous n'avons pas fini. Une fois les spores endogènes formées, si on les porte sur les régions humides de la surface du grain, spécialement là où la pellicule est brisée ou plus simplement dans du moût, elles se mettent de suite à germer comme les spores de levure véritable. La spore gonfle, la paroi s'amincit, prend une forme ellipsoïdale, et se met



Fig. 10.

à bourgeonner (fig. 8). Quand les cellules à spores étaient trop vieilles ou un peu desséchées, leur membrane s'épaissit ; alors, à la germination, au lieu de se résorber, elle s'entr'ouvre comme une coque, et la levure en sort (fig. 9). Quand elles sont trop desséchées, elles deviennent incapables de germer. La levure produite est une levure typique ellipsoïdale (fig. 10), fournit sur gélatine des colonies analogues à celles des levures, des voiles superficiels sur les liquides sucrés ; elle peut faire fermenter le moût de vin et de bière : M. Jörgensen ne dit pas si c'est activement. Enfin, sur des surfaces humides ou sur du plâtre, elle peut donner à nouveau des spores (fig. 11) plus petites que les spores dont elle provient elle-même. Il est très intéressant de remarquer que les premières générations de ces *Saccharomyces* sur du raisin se souviennent un peu de leur forme originelle lorsqu'on les ramène à l'état de spores : quelques cellules n'en donnent que deux ou une, d'une grosseur anormale. Les générations ultérieures ne présentent plus de ces formes de transition, se reproduisent indéfiniment à l'état de levures, et aucun procédé n'a permis de les faire remonter

au *Dematium* originel. Elles sont fixées, et à une nouvelle fonction stable correspond une forme également stable.

Tel est le fait important découvert par M. Jörgensen. Il éclaire, comme on le voit, d'une vive lumière la question de l'origine des levures, et permet de comprendre qu'il y ait de nombreuses espèces de levures descendant chacune d'un végétal particulier. Peut-être ces levures, qui sont seulement en *puissance* dans la vendange qu'on entonne, jouent-elles un rôle, non dans la fermentation principale, mais dans les fermentations secondaires, qui influent, comme on sait, sur la saveur des vins. Peut-être expliquent-elles les différences dans la qualité du produit d'une année à l'autre pour un même vignoble, ou d'une localité à l'autre pour une même année de vendanges. Ce n'est pas que je croie beaucoup à cette profonde influence de la levure sur les qualités d'un vin : elle existe, mais faible, et perceptible seulement aux palais délicats. Les grandes différences dans les vins me semblent bien plutôt



Fig 41.

dues à des différences dans ceux de leurs éléments constitutants sur lesquels on ne sait encore rien. L'acide tartrique, l'acide malique existent dans tous les vins, mais en proportions différentes. Quand on les a séparés, il reste encore des acides fixes, dont l'influence sur la saveur et la qualité n'est pas négligeable, et ces acides sont nombreux. J'y ai déjà trouvé de l'acide glucique, de l'acide pectique, de l'acide caprique, et je ne suis pas au bout. C'est du côté de ces éléments inconnus, plutôt que du côté des levures, qu'il faut chercher les différences entre les récoltes et les crus. Mais il n'en est pas moins vrai que les résultats de M. Jörgensen font poindre une foule de questions très importantes, et non encore abordées jusqu'ici. Il ne faut ni escompter les espérances qu'ils donnent, ni les dédaigner. Il faut attendre seulement, pour en parler, que ces espérances soient devenues des réalités.

DUCLAUX.

---

Le Gérant : G. MASSON.